

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	北 村 守 正
論文題目	Glottic Regeneration with Tissue Engineering Technique Using Acellular Extracellular Matrix Scaffold in a Canine Model (イヌモデルにおける脱細胞性細胞外マトリックスを用いた再生医学的手法による喉頭再生)		
(論文内容の要旨)			
喉頭は軟骨・筋肉・粘膜によって構成される複雑な器官で、呼吸・発声・嚥下など人が生きていく上でひじょうに重要な役割を果たしている。進行喉頭癌の治療は外科的切除が主流であり、手術により喉頭の機能が失われることで大きなハンディキャップを背負うことになる。これまで喉頭の半側切除や部分切除において皮膚弁や筋皮弁、甲状腺弁など様々な組織を用いて切除部の再建が行われてきたが、手技は複雑であり、術後の音声機能も必ずしも満足できるものではなかった。 近年、再生医療の進歩はめざましく、さまざまな組織や臓器の再生が行われている。免疫反応の少ない脱細胞性の材料が同種・異種に関わらず組織再生に用いられるようになってきており、ブタの膀胱から採取した脱細胞性細胞外マトリックス（Acellular extracellular matrix scaffold derived from porcine urinary bladder (UBM)）は、これまで動物の鼓膜、食道、気管、胸膜、心膜などの再生に用いられ、良好な結果が報告されている。本研究では UBM をイヌ喉頭部分切除モデルに移植し、喉頭欠損部の再生が可能かどうかを検討した。 UBM はブタの膀胱の上皮層および粘膜固有層を剥離・抽出した後、過酸化水素（0.1%）、エタノール（4%）、脱イオン水（96%）を用いて脱細胞化し、これを層状に重ね、真空ポンプで陰圧をかけて作成する。今回は喉頭に固定しやすいように約 4×4cm のシートの中央に 1.5×1.5 cm の弁を作成したものを使用した。 ビーグル犬 5 匹に対して、頸部外切開を行い、甲状軟骨左側を 1.8×1.0cm の範囲で除去した上で左声帯を前交連から声帯結節まで切除した。UBM シートの中央にある弁を喉頭内に挿入し、声帯切除部を被覆し吸収糸で固定した。シート部分は甲状軟骨に固定し閉創した。 術後、喉頭内視鏡を用いて定期的に UBM 移植部位の観察を行った。術後 6 ヶ月目に喉頭を摘出し、HE 染色による組織学的評価および音声機能評価を行った。音声機能評価では、摘出喉頭の気管側から人工気流を送り込むことで声帯を振動させ、それをハイスピードカメラで録画し、画像解析を行った。発声閾値圧、振動中の声帯の閉鎖時と最大開大時の声帯振動振幅、閉鎖時の声門間隙の面積をそれぞれ測定した。 喉頭内視鏡の観察では、術後 1 - 2 週では創部に肉芽形成をきたしたが、術後 1 ヶ月の時点ですべてのイヌにおいて創部は上皮化していた。摘出喉頭の組織学的評価では UBM は完全に吸収されており、移植部の一部には軟骨や筋肉が再生していた。声帯組織の大部分は線維組織が占めており、声帯の層構造は認めなかった。摘出喉頭による音声機能評価を行ったところ、発声閾値圧では 2 匹にて正常域を示し、また声帯振動振幅では 3 匹において正常域を示した。			

これまでの喉頭再生の報告では、再生声帯の粘弾性は乏しく、声帯振動が悪いため、音声学的評価では不十分な結果であった。しかし、本研究では正常域を示す例もあり、UBM による喉頭再生は音声機能面においても有効である可能性示された。ただ組織学的には大部分が瘢痕組織であり、より正常に近い組織を再生させるには、新たに成長因子や細胞などを加える必要があると考えられる。 以上の結果により、障害喉頭部位へ脱細胞性の材料を用いることで、障害部位の再生の可能性が示され、今後の臨床への応用が期待される。
(論文審査の結果の要旨) 喉頭は呼吸・発生・嚥下に関与し、人間として生活していく上で重要な役割を果たしている。進行喉頭癌の治療では外科的切除が主流であり、これまで様々な組織で切除部の再建が行われてきたが、手技は複雑で音声機能も満足できるものではなかった。近年、免疫反応の少ない脱細胞性の材料が組織再生に用いられるようになってきており、本研究ではブタの膀胱から採取した脱細胞性細胞外マトリックス（以下 UBM とする）をイヌ喉頭部分切除モデルに移植し、喉頭欠損部の再生が可能かどうか検討した。 ビーグル犬 5 匹に対して、甲状軟骨から声帯まで達する欠損を作成し、UBM にて欠損部を被覆し固定した。術後 6 ヶ月で喉頭を摘出し、組織学的評価および音声機能評価を行った。術後 1-2 週では創部に肉芽形成をきたしたが、1 ヶ月後にはすべてのイヌにおいて創部は上皮化していた。摘出喉頭の組織学的評価では移植部の一部には軟骨や筋肉が再生していた。声帯粘膜下は線維性組織が占めており、声帯の層構造は認めなかった。しかし、音声機能評価で 3 匹にて正常域もしくは正常域に近い結果であり、再生声帯としては良好な音声機能を示した。以上により脱細胞性の材料を用いての良好な音声機能を有する喉頭再生の可能性が示された。 以上の研究は組織工学に基づいた喉頭再生治療の解明に貢献し、喉頭切除後の欠損部に対する新たな治療法の開発に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 5 月 12 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日
年
月
日